

**Aus der Abteilung für experimentelle Chirurgie
und pathologische Biochemie
an der Chirurgischen Universitätsklinik Marburg
Vorstand : Prof. Dr. med. W. Lorenz**

**HISTAMINGEHALT UND
HISTAMINMETHYLTRANSFERASEAKTIVITÄT
DER KANINCHENNIERE
NACH AKUTEM NIERENARTERIEN- ODER
NIERENVENENVERSCHLUSS**

**Inaugural – Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der gesamten Medizin
dem Fachbereich Humanmedizin
der Philipps-Universität Marburg**

**vorgelegt von
Klaus-Richard Herrmann
aus Lübeck**

Marburg 1977



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41552327_0038

Aus der Abteilung für experimentelle Chirurgie
und pathologische Biochemie
an der Chirurgischen Universitätsklinik Marburg
Vorstand : Prof. Dr. med. W. Lorenz

**HISTAMINGEHALT UND
HISTAMINMETHYLTRANSFERASEAKTIVITÄT
DER KANINCHENNIERE
NACH AKUTEM NIERENARTERIEN- ODER
NIERENVENENVERSCHLUSS**

Inaugural – Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der gesamten Medizin
dem Fachbereich Humanmedizin
der Philipps-Universität Marburg

vorgelegt von
Klaus-Richard Herrmann
aus Lübeck

Marburg 1977



Angenommen vom Fachbereich Humanmedizin der
Philipps-Universität Marburg am 18. November 1977
Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereiches

Dekan: Prof. Dr. med. F. Neurath
Referent: Prof. Dr. med. W. Lorenz
Coreferent: Prof. Dr. med. dent. I. Hennis

Inhaltsverzeichnis

	Seite
1. Einleitung	1
1.1. Pharmakologische Wirkung von Histamin an der Niere	1
1.2. Mögliche Rolle des Histamins bei Nierenerkrankungen	5
1.3. Abbau von Histamin in Nierengewebe	6
1.4. Schema der Methylierung von Histamin unter der Katalyse von HMT	8
1.5. Ziel der Arbeit	10
2. Material und Methoden	11
2.1. Material	11
2.1.1. Gewebe- und Organgewinnung	11
2.1.2. Enzympräparationen	11
2.1.3. Reagenzien für die Histamin- und Histaminmethyltransferaseaktivitätsbestimmung	11
2.1.4. Pharmaka zur Durchführung der Nierenarterien- bzw. -venenligatur	12
2.2. Methoden	12
2.2.1. Unterbindung der Arteria bzw. Vena renalis des Kaninchens	12
2.2.2. Bestimmung des Histamingehaltes von Kaninchennieren	13
2.2.3. Bestimmung der enzymatischen Aktivität der HMT mittels einer Isotopenmethode	16
2.2.4. Proteinbestimmung mittels der Biuret-Methode	20
2.2.5. Statistische Auswertungen	22
3. Ergebnisse	23
3.1. Aktivität der HMT in verschiedenen Organen des Kaninchens	23
3.2. Einfluß der Unterbindung von Nierengefäßen auf den Histaminmetabolismus der Kaninchenniere	25

3.2.1.	Unterbindung der Arteria renalis	25
3.2.1.1.	Veränderung des Nierengewichts	25
3.2.1.2.	Veränderungen des Proteingehalts	27
3.2.1.3.	Veränderungen des Histamingehalts	30
3.2.1.4.	Veränderungen der HMT-Aktivität	32
3.2.2.	Unterbindung der Vena renalis	34
3.2.2.1.	Veränderungen des Nierengesichts	34
3.2.2.2.	Veränderungen des Proteingehalts	36
3.2.2.3.	Veränderungen des Histamingehalts	37
3.2.2.4.	Veränderungen der HMT-Aktivität	39
4.	Diskussion	42
4.1.	Verteilung der HMT-Aktivität in Kaninchenorganen	42
4.2.	Veränderungen des Histamingehalts der Nieren bei akuter Nierenarterien- bzw. -venenunterbindung	43
4.3.	Veränderung der HMT-Aktivität bei akuter Nierenarterien- bzw. -venen- unterbindung	46
5.	Zusammenfassung	48
6.	Literaturverzeichnis	50

In dieser Arbeit wurden folgende häufig wiederkehrende und gebräuchliche Abkürzungen benützt:

HMT	Histaminmethyltransferase (S-Adenosyl-methionin: Histamin-N-Methyl- transferase; EC 2.1.1.8)
SAM	S-Adenosyl-L-methionin
SAH	S-Adenosyl-L-homocystein
NaPP	Natriumdihydrogenphosphat/Dinatrium- hydrogenphosphat-Puffer

1. EINLEITUNG

1.1. Pharmakologische Wirkung von Histamin an der Niere.

Die starke pharmakologische Wirkung von Histamin im Kreislauf des Menschen und vieler anderer Säugerspezies veranlaßte zahlreiche Untersuchungen auf diesem Arbeitsgebiet in allen größeren Organsystemen, überraschend wenige aber im Urogenitaltrakt.

So wurde die Wirkung des Histamins auf die Nierendurchblutung erst kürzlich eindeutig aufgeklärt (CAMPBELL & ITSKOWITZ, 1976). Ob es zu einer Vasokonstriktion oder -dilatation kommt, hängt hauptsächlich davon ab, ob die Nieren mit Blut oder einem künstlichen Perfusionsmedium durchspült werden (vgl. auch WAUGH & SHANKS, 1960). In der mit Blut perfundierten isolierten Hundeniere bewirkt Histamin eine Vasodilatation (BLACKMORE et al., 1952; SINCLAIR et al., 1974; CAMPBELL & ITSKOWITZ, 1976). Dies scheint durch eine Erregung von H_1 -Rezeptoren zu geschehen, da dieser Effekt durch Diphenhydramin, aber nicht durch Metiamid unterdrückt werden kann (CAMPBELL & ITSKOWITZ, 1976).

Ebenso wie in der Hunde- werden auch in der blutdurchströmten Katzeniere die Gefäße durch Histamin erweitert, während sich die Gefäße des Kaninchens kontrahieren, was auf einen speziesspezifischen Unterschied hinweist (DALE & LAIDLAW, 1910; CAMPBELL & ITSKOWITZ, 1976).

Im Gegensatz zu seinen vasodilatatorischen Eigenschaften an der blutdurchströmten Katzen- und Hundeniere wirkt Histamin bei allen drei Spezies Katze (DALE & LAIDLAW, 1910), Hund (CAMPBELL & ITSKOWITZ, 1976) und Kaninchen (BÖKESÖY & TÜRKER, 1974; ERCAN & TÜRKER, 1975) ausschließlich als renaler Vasokonstriktor, wenn die Nieren dieser Spezies mit einem künstlichen Medium durchströmt werden. Die Vasokonstriktion der Nierengefäße des Kaninchens kehrt sich in Anwesenheit eines H_1 -Rezeptor-Antagonisten in eine Vasodilatation um, welche ihrer-

seits wiederum durch Gabe des H_2 -Rezeptor-Antagonisten Burimamid verhindert werden kann (BÜKESÖY & TÜRKER, 1974).

Ebenso wie die Wirkung des Histamins auf die Nieren-durchblutung konnten auch die bis dahin teilweise konträren Aussagen bezüglich der antidiuretischen Wirkung dieses biogenen Amins erst neuerdings von CAMPBELL & ITSKOWITZ (1976) als einheitliches Konzept dargestellt werden, wobei allerdings nur Untersuchungen an Hund und Katze vorliegen. Danach hängt die diuretische Leistung der Niere davon ab, ob die Untersuchung bei konstantem Perfusionsdruck oder konstantem renalen Blutfluß durchgeführt werden. Wird der Perfusionsdruck konstant gehalten, hat Histamin keinen antidiuretischen Effekt. Sinkt allerdings der Perfusionsdruck so weit, daß der renale Blutfluß konstant bleibt, so nehmen die glomeruläre Filtrationsrate und die Exkretion von Wasser und Salz ab, während die Rückresorption dieser Stoffe ansteigt.

Diese Effekte scheinen vor allem auf den verminderten Perfusionsdruck und nicht auf direkte metabolische Effekte des Histamins zurückzuführen sein, da bei Aufrechterhaltung des Druckes die Gabe von Histamin keinen Effekt auf die Nierenfunktion hat (s.o.). Die Tatsache, daß nach intracerebroventrikulärer Injektion von Histamin die beobachtete Diureseabnahme von einer erhöhten Freisetzung von antidiuretischem Hormon begleitet wird (BHARGAVA et al., 1973), und dieser Mechanismus im Gesamtorganismus zumindest auch für die antidiuretische Wirkung des Histamins verantwortlich sein könnte, scheint von untergeordneter Bedeutung, da im isolierten Organ die Wirkung des Histamins nur über seine Kreislaufwirkung erklärt werden kann (CAMPBELL & ITSKOWITZ, 1976). Ein ähnlicher hämodynamischer Effekt mag für die Beobachtung verantwortlich sein, daß die beim Menschen durch subkutane Applikation von Histamin er-

zeugte Blutdrucksenkung von einer Abnahme der Kreatinin-clearance und des Urinvolumens begleitet wird (BJERING, 1973; REUBI & FUTCHER, 1949). Andererseits fanden SINCLAIR et al. (1974), daß die intraarterielle Infusion von Histamin (konstanter Perfusionsdruck) den renalen Blutfluß und den Urinfluß steigert, da es unter diesen Bedingungen zu keinem Abfall des arteriellen Druckes kommt.

Trotz dieser relativ guten Kenntnisse der pharmakologischen Wirkungen von Histamin auf die Nierendurchblutung und die Diurese ist nichts über den Histamingehalt des Nierenparenchyms unter pathophysiologischen Bedingungen und damit auch nichts über dessen mögliche Funktion bei solchem Geschehen bekannt. Lediglich HINSHAW et al. (1963) diskutieren Histamin als eine der Ursachen für die Hyperämie der Niere nach Lösen einer kurzzeitigen Ligatur der A. renalis (vgl. Tab. 1).

Reaktion der Niere	Verantwortliche Komponenten
Ischämie	1. angiotensinähnliche Stoffe 2. adrenalinähnliche Stoffe 3. nicht identifizierte Vasokonstriktoren 4. myogene Antwort
Hyperämie	1. verminderter Gewebsdruck 2. histaminähnliche Substanzen 3. nicht identifizierte Vasodilatoren 4. verminderte Ansprechbarkeit auf Vasokonstriktoren

Tabelle 1: Komponenten, die für eine Veränderung
des Widerstandes im renalen Gefäßbett
nach Okklusion der A. renalis verant-
wortlich sein könnten.

1.2. Mögliche Rolle des Histamins bei Nierenerkrankungen.

Auch über die mögliche Bedeutung des Histamins im pathophysiologischen Ablauf von Erkrankungen des Urogenitaltrakts ist in der Literatur als einziges Krankheitsbild die Hydronephrose, in deren Verlauf der Histamingehalt des Nierengewebes untersucht wurde, beschrieben (BABICS & RÉNY-VÁMOS, 1952). Es wird berichtet, daß hydronephrotische Nieren des Kaninchens mehr Histamin als normale Nieren enthalten. Weiterhin wird vorgeschlagen, daß Histamin bei der Hydronephrose durch Vermehrung der Plasmafiltration, Erhöhung der Permeabilität der Kapillaren und Stimulierung des Lymphflusses eine protektive Rolle spielen könnten. Allerdings wurden diese Untersuchungen mit einer unzuverlässigen, heute obsoleten Histaminbestimmungsmethode (BEST & McHENRY, 1930) durchgeführt und die Entwicklung der Hydronephrose nur über drei Tage verfolgt.

Ähnliche Versuche über eine mögliche Rolle des Histamins bei Hydronephrose wurden in jüngster Zeit von BARTH et al. (1974, 1975) am Kaninchen durchgeführt, wobei ein starker Anstieg des Histamingehalts der gestauten Nieren während des ersten Tages der experimentellen Hydronephrose beobachtet wurde. Dieser starke initiale Anstieg induzierte eine langsame Zunahme der HMT-Aktivität. Der beobachtete Adaptationsprozeß wurde auch hier als ein Schutzmechanismus gegen die Bildung und Freisetzung von großen Histaminmengen diskutiert. Da ein Verschuß der Ureteren, wie er bei Nierensteinleiden oder wie bei hypernephroiden Tumoren vorkommen kann, nach einem kurzdauernden Anstieg des renalen Plasmaflusses in der akuten Phase unter Vergrößerung des vaskulären Widerstandes zu einem ausgeprägten Abfall der renalen Durchblutung (VAUGHAN et al., 1970) und zum Verschuß der intra-

renalen Venen führt (BELL et al., 1971), könnten die bei der Hydronephrose beobachteten Veränderungen des Histaminmetabolismus mit der arteriellen Blutzufuhr korreliert sein.

1.3. Abbau von Histamin in Nierengewebe

Bei der Bewertung der Bedeutung, die einem Stoff bei pathophysiologischen Prozessen als Mediator zukommt, ist nicht nur dessen Konzentrationsbestimmung, sondern ebenso die Untersuchung seiner veränderten Bildungs- und Abbauraten von Bedeutung.

Bei Bewertung der Literatur ist zu bedenken, daß vor der Beschreibung der das Histamin über eine Methylierung abbauenden HMT die histaminabbauende Aktivität der Niere immer als "Histaminase" bezeichnet wurde. Diese Bezeichnung wurde später allerdings immer öfter als Synonym für die Diaminoxidase verwendet. Da aber die Kaninchenniere keine Diaminoxidase enthält (KUSCHE et al., 1975) müssen "Histaminase"-Aktivitäten in Kaninchennieren, die vor ca. 1960 berichtet werden, wohl als Aktivitäten der Histaminmethyltransferase (HMT) angesehen werden.

So wird der erste indirekte in-vitro-Nachweis von HMT-Aktivität in der Kaninchenniere von ANREP et al. (1936) beschrieben, wobei die geringe Histaminsensitivität des Kaninchens nicht mit einer übergroßen abbauenden Aktivität erklärt werden kann.

WERLE et al. (1940) sowie WERLE & LELLMANN (1945) berichten über die hohe Histamin inaktivierende Aktivität der Niere bei Unterbindung der A. und V. renalis.

EMMELIN (1951) errechnete dann bei direkter intrarenaler Injektion von Histamin für die Katzenniere

eine mögliche Histamininaktivierung von 0,7 - 1,5 $\mu\text{g/g/min}$ und stellte fest, daß dieses Organ neben der intestinalen Mucosa der Ort der höchsten Histamininaktivierung ist. Der Histamingehalt der inaktivierenden Niere kann dabei kurzfristig von 0,6 $\mu\text{g/kg}$ auf über 30 $\mu\text{g/kg}$ erhöht sein. Erst bei Überschreiten der möglichen Inaktivierungsmenge von ca. 1,5 $\mu\text{g/g/min}$ kommt es zu einem Blutdruckabfall und Auftreten von erhöhten Histaminspiegeln in der V. renalis und im Urin. LINDELL & SCHAYER (1958) erkannten dann in ähnlichen Versuchen unter Verwendung des Diaminoxydasehemmstoffes Aminoguanidin, daß ca. 20 - 30 % der histaminabbauenden Aktivität auf die Diaminoxydase und 70 - 80 % auf die in diesem Organ erstmals vermutete HMT entfällt, und ARNOLDSON et al. (1962) zeigte schließlich, daß auch beim Menschen 80 % des injizierten Histamins in einer einzigen Nierenpassage abgebaut und als Metaboliten Methylimidazolessigsäure und Imidazolessigsäure in den Urin ausgeschieden werden (HELANDER et al., 1965).

In-vitro-Aktivitätsbestimmungen wurden in Nieren einer Anzahl von Spezies wie Mensch (LINDELL, 1958; LINDBERG et al., 1963), Katze, Kaninchen, Meerschweinchen, Maus und Ratte (BROWN et al., 1959; AZIZ, 1961; NETTER et al., 1961; WESTLING & WETTERQUIST, 1962; SNYDER & AXELROD, 1965; NETTER & BODENSCHATZ, 1967; THITHAPANDHA & SRINOOT, 1972; SURIYACHAN & THITHAPANDHA, 1972) durchgeführt. Trotz dieser Vielzahl von Untersuchungen wurde die HMT nur in der Niere der Ratte (NETTER & BODENSCHATZ, 1967) und der Katze (SURIYACHAN & THITHAPANDHA, 1972; THITHAPANDHA & SRINOOT, 1972) bezüglich der K_m -Werte für Histamin und SAM bzw. das pH-Optimum näher untersucht. Ein Vergleich der angegebenen Aktivitäts-Werte ist praktisch nicht möglich, da die verschiedensten Enzympräparationen und auch verschiedene Bezugsgrößen zur Aktivitätsbestimmung benutzt wurden.

Eine Bestimmung der Enzymaktivität unter pathologischen Zuständen erfolgte in der Niere bisher in keinem Fall.

1.4. Schema der Methylierung von Histamin unter der Katalyse von HMT.

Die Eigenschaften der HMT wurden von LINDAHL (1958, 1958 a; BROWN et al. 1959) und nach einer gelungenen Anreicherung auch der Reaktionsmechanismus von BARTH et al. (1973, 1973 a, 1974, 1975 a) weitgehend aufgeklärt. Es zeigte sich, daß in Anwesenheit von S-Adenosyl-L-methionin (SAM) Histamin mit einer hohen Spezifität am τ -Stickstoff des Imidazolrings methyliert wird; als Reaktionsprodukt entstehen S-Adenosyl-L-homocystein und N $^{\tau}$ -Methylhistamin (Abb. 1). Wegen der hohen Substratspezifität für Histamin wurde dieses Enzym Histaminmethyltransferase (S-Adenosyl-L-methionin: Histamin-N-methyltransferase, EC 2.1.1.8) genannt.

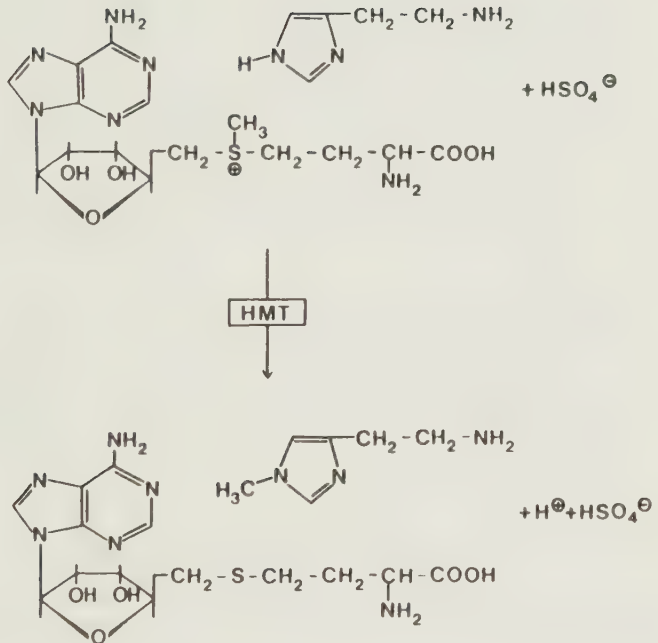


Abb. 1

Reaktionsschema der durch HMT katalysierten Transmethylierung.

1.5. Ziel der Arbeit.

Da über die Funktion und die Bedeutung des Histamins sowie den Abbauweg dieses Mediators über die Methylierung bei pathophysiologischen Zuständen in der Niere außer bei der Hydronephrose nichts bekannt war, und bisher zur Bestimmung der spezifischen Aktivität der HMT in Kaninchenorganen keine einheitlich optimierte Methode zur Verfügung stand, sollten in dieser Arbeit 2 Fragen beantwortet werden:

1. In welchem Ausmaß wird in den verschiedenen Organen des Kaninchens das pharmakologisch hoch wirksame Histamin durch Methylierung am Imidazolring zu pharmakologisch völlig inertem N^T-Methylhistamin abgebaut ?
2. Hat beim Kaninchen eine unilaterale Unterbindung der A. bzw. V. renalis einen Einfluß auf den Histamingehalt und die HMT-Aktivität der unterbundenen und der noch funktionierenden kontralateralen Niere ?

2. Material und Methoden

2.1. Material

2.1.1. Gewebe- und Organgewinnung

Die untersuchten Kaninchenorgane entstammten 71 männlichen Tieren (2,4 - 4,0 kg, Rasse Großsilber). Die Tiere wurden durch Genickschlag getötet und die Organe sofort entnommen, mit Tyrode-Lösung gewaschen, schockgefroren und bei -20°C einige Tage bis zur Bestimmung der Enzymaktivität oder Substratkonzentration gelagert.

2.1.2. Enzympräparationen

Zur Aktivitätsbestimmung der HMT in den verschiedenen Geweben wurde eine einfache Enzympräparation gewählt, wobei alle Schritte bei $0 - 2^{\circ}\text{C}$ durchgeführt wurden. Die gefrorenen Gewebe wurden mit 2 Volumina $0,01\text{ M NaPP}$, pH 7,4, mit Hilfe eines Ultraturrax (Typ 18/2N; Jahnke und Kunkel, Staufen) homogenisiert und das Homogenat 45 min bei einer mittleren Beschleunigung von 143.000 g (Spinko L2 75B, Beckmann, München) zentrifugiert. Da die gesamte Aktivität im Überstand zu finden ist (BARTH, 1974) diente dieser als Enzymquelle.

2.1.3. Reagenzien für die Histamin- und Histaminmethyltransferaseaktivitätsbestimmung

Histamin-Dihydrochlorid puriss. (Fluka, Buchs), S-Adenosyl-L-methionin-Hydrogensulfat (Boehringer, Mannheim), S-Adenosyl-L(methyl- ^{14}C)-methionin ($0,51\text{ mCi/mmol}$; The Radiochemical Centre, Amersham); ^{14}C -Toluol-Standard (Buchler, Braunschweig); 2,5-Di-phenyloxazol (PPO), 2,2'-p-Phenylen-bis-(5-phenyloxazol) (POPOP) und Toluol (alle "für Szintillationsmessungen"); Isoamylalkohol p.a., alle anorganischen Salze, Säuren und Basen p.a. (alle Merck, Darmstadt),

o-Phthaldialdehyd puriss. p.a. (umkristallisiert aus Petroläther, Siedebereich 40-60°C, Fluka, Buchs); Dowex 50 W-X 8, H⁺-Form, mesh 200-400 (Serva, Heidelberg). Zur Zubereitung sämtlicher Lösungen und Puffergemische wurde ausschließlich bidestilliertes Wasser (Bidestillationsanlage, 2. Stufe Quarzglas, Typ 1108; Köttermann, Hänsingen) verwendet.

2.1.4. Pharmaka zur Durchführung der Nierenarterien- bzw. -venenligatur

Pentobarbital-Natrium (Nembutal^R; Abbott, Ingelheim), Halothan^R (Hoechst, Frankfurt), Phenyl-Mercury-Borat (Merfen^R, Zyma-Blaes, München).

2.2. Methoden

2.2.1. Unterbindung der Arteria bzw. Vena renalis des Kaninchens

Die Tiere waren zur Operation, deren Ziel die einseitige und selektive Ligatur der A. bzw. V. renalis war, nüchtern und wogen im Durchschnitt $3,3 \pm 0,5$ kg ($\bar{x} \pm S.D.$). Jedes Tier wurde großflächig im Bereich des linken Rippenbogens von der Wirbelsäule bis zur Linea alba geschoren. Sodann wurde das Tier in einen kleinen Glaskasten (50x40x40 cm) gesetzt, in den ca. 10 ml Halothan^R verstäubt wurden. Das so narkotisierte Tier wurde dann auf einen Tieroperationstisch auf eine untergelegte Elektrode des Thermokauters (Siemens, München) geschnallt, wobei der Kopf während des gesamten Eingriffs in dem Narkosekasten verblieb, um jederzeit durch erneutes Einsprühen von Halothan ein Abflachen der Narkose verhindern zu können. Die sauber-

geschorene Fellfläche wurde mit Merfen^R-Lösung desinfiziert. Unterhalb des Verlaufs des linken Rippenbogens wurde das Fell elektrochirurgisch und die übrigen Wandschichten mit der Schere durchtrennt und somit die Bauchhöhle eröffnet. Auftretende Blutungen wurden elektrokoaguliert. Die linken Nieren wurden hervorgehoben und der Gefäßstiel dargestellt und präpariert. Die A. bzw. V. renalis wurden selektiv mit 000-Mersilene-Faden umschlungen und unterbunden. Bei Unterbindung der A. renalis zeigte sich die Ischämie spontan in einem Ablassen der Niere an, während die venöse Stauung zunächst keine akute Verfärbung bewirkte. Die Niere wurde danach wieder reponiert. Die durchtrennte Bauchwand und das Fell wurden mit zwei fortlaufenden Atraumatic-Chromcat-Nähten vernäht. Nach der Operation wurden die Tiere in ihre Käfige zurückgelegt, wo sie nach 5 - 15 min aus der Narkose erwachten. Auf eine postoperative Medikation wurde verzichtet.

2.2.2. Bestimmung des Histamingehaltes von Kaninchennieren

Das Nierengewebe wurde mit 3 Volumina 0,4 N HClO₄ bei Zimmertemperatur homogenisiert. Nachdem das gefällte Eiweiß durch eine 5 min Zentrifugation bei 1800 g abzentrifugiert war, wurden 4 ml des Überstandes mit 2 N NaOH auf pH 6,5 (Einstellung mit Hilfe einer Glaselektrode) gebracht. Diese Lösung wurde auf ein Säulchen von Dowex 50 W-X 8 (0,3 cm Ø, 2 cm lang, Flüssigkeitsreservoir ca. 13 ml, äquilibriert mit 0,1 M NaPP, pH 6,5) aufgetragen. Danach wurde die Säule sukzessive mit 5,0 ml 0,1 M NaPP, pH 6,5, mit 1,0 ml Wasser und mit 5,0 ml 1 N HCl gewaschen. Histamin wurde dann mit 3,0 ml 4 N HCl von der Säule eluiert. Für die fluorometrische Bestimmung wurde das Eluat mit Wasser 1:2 verdünnt. In Doppelbestimmung wurden je 1,7 ml dieser 6 ml Lösung mit 0,8 ml 5 N NaOH alkali-

siert. Dann wurden 0,1 ml einer 1%igen (w/v) Lösung von o-Phthaldialdehyd in Methanol zugegeben und genau 2 min später durch die Zugabe von 0,6 ml 2 M H_3PO_4 die Reaktion abgestoppt (Reaktionsablauf der Kondensation, s. Abb. 2) und die Fluoreszenz der gebildeten Verbindung in einem Spectralfluorometer (ZFM₄C mit HTV R446 Photomultiplier, Zeiss, Oberkochen) bei $21,0 \pm 0,5^\circ C$ gemessen. Die Anregungswellenlänge war 360 nm (Spaltbreite 1,2 mm), die Emissionswellenlänge war 450 nm (Spaltbreite 0,8 mm). Der fluoreszierende Histamin-o-Phthaldialdehyd-Komplex war für mindestens eine Stunde stabil. Die Fluoreszenzintensität war einer Histaminkonzentration von 1-700 ng Histamindihydrochlorid/ml des verdünnten Eluats direkt proportional.

Die Richtigkeit der Histaminbestimmung wurde durch einen "Umkehrblank", einen "Reagenzienblank" und einen "Eichwert" kontrolliert. Beim Umkehrblank (für jede Histaminbestimmung durchgeführt) wurden 1,7 ml der Histamin enthaltenden Lösung vor der Kondensation mit o-Phthaldialdehyd wieder angesäuert, so daß die nur im Alkalischen ablaufende Komplexbildung nicht stattfinden konnte. Fehlende Fluoreszenz dieses Umkehrblanks zeigte die Abwesenheit von fluoreszierenden Verunreinigungen an. Beim Reagenzienblank wurde die den Inkubationsansätzen entnommene, Histamin enthaltende Lösung durch 3,0 ml 0,4 N $HClO_4$ ersetzt. Die Fluoreszenzintensität dieses Blanks durfte die des Umkehrwertes nicht übersteigen und zeigte an, ob die verwendeten Reagenzien frei von mit o-Phthaldialdehyd reagierenden Substanzen waren. Im Eichwert schließlich wurde die Fluoreszenzintensität von 1,7 ml einer Histamin-Standardlösung (0,5 $\mu g/ml$ 2 N HCl) nach Kondensation mit o-Phthaldialdehyd ermittelt. Wichtiger Wert mehr als 5,4% (Variationskoeffizient der Histaminbestimmung, s. LORENZ et al., 1970) von der benutzten Eichkurve

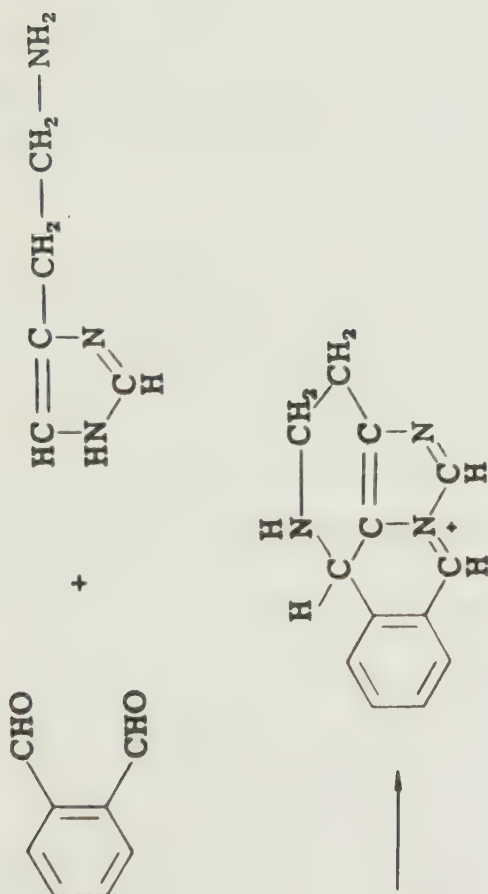


Abb. 2

Kondensation des Histamins mit o-Phthaldial-
dehyd.

(0,1 - 0,8 μ g Histamin/ml 2 N HCl) ab, so wurde eine neue Eichkurve angefertigt (z.B. nach durch Verschleiß bedingten Veränderungen am Fluorometer).

2.2.3. Bestimmung der enzymatischen Aktivität der HMT mittels einer Isotopenmethode

Prinzip der Methode

Diese Methode ermöglicht die Bestimmung eines der Reaktionsprodukte der durch HMT katalysierten Reaktion, nämlich des $\bar{L}$ -Methylhistamins und stellt eine Modifikation der Methode von SNYDER & AXELROD (1965) dar.

Zusammensetzung der Inkubationsgemische

Zur Enzymaktivitätsbestimmung waren in einem Ansatz von 0,5 ml Gesamtvolumen die in Tabelle 2 angegebenen Substanzen enthalten.

Durchführung der Inkubationen

Die Inkubationen wurden in Reagenzgläsern mit Glas-schliff unter Luftatmosphäre bei 37°C in einem Thermo-block (CH 12, Liebisch, Brackwede) durchgeführt. Die Reihenfolge der Zugabe der Reaktionsteilnehmer und eine Vorinkubation waren ohne Einfluß auf die Enzymaktivität. Die Reaktion wurde durch Zugabe von SAM gestartet. Nach 0, 15, 30, 45 und 60 min wurde durch Zugabe von 0,5 ml 0,5 M Boratpuffer, pH 10,0, die Reaktion in den einzelnen Ansätzen abgestoppt.

Extraktion von $\bar{L}$ -Methylhistamin aus dem Inkubationsgemisch und Messung des ^{14}C - $\bar{L}$ -Methylhistamins

Nach dem Abstoppen der Reaktion wurde das gebildete ^{14}C - $\bar{L}$ -Methylhistamin durch mechanisches Schütteln für 15 min auf einem Horizontalrüttler (Bühler, Tübingen) in 6 ml Toluol-Isoamylalkohol-Gemisch (3:2 v/v) überführt. Wässrige und organische Phase wurden durch 5 min Zentrifugation bei 1800 g getrennt. 4 ml des Überstandes wurden in Polyäthylen-Szintillationsflaschen (Hormuth, Heidelberg) übertragen, in denen sich 2 ml absolutes Äthanol und 10 ml Toluol-Szintillator (0,4 % PPO und 0,01 % POPOP) befanden. Im Flüssigszintillationszähler (TriCarb 3380, Packard, Frankfurt) wurde die enthaltene Radioaktivität mit dem im Gerät vorgegebenen ^{14}C -Kanal auf $\pm 1,5\%$ (2 σ -Grenze) genau bestimmt.

Ermittlung der HMT-Aktivität

Zur Bestimmung eines einzelnen Wertes der HMT-Aktivität wurden neben vier Inkubationsansätzen, die nach 15, 30, 45 und 60 min abgestoppt wurden, vier weitere Ansätze mit hitzeinaktiviertem Enzym vorbereitet (zur Hitzeinaktivierung wurde 1 ml der Enzymlösung in mit Schliffstopfen verschlossenen Reagenzgläsern für 10 min in kochendem Wasser belassen). Dadurch wurde ein Hinweis auf die Radioaktivität erhalten, die von anderen Stoffen als dem enzymatisch gebildeten ^{14}C - $\bar{L}$ -Methylhistamin stammte (Hydrolyseprodukte, Verunreinigungen).

Außer diesen Ansätzen waren 2 weitere zur Kontrolle der Spezifität des Enzymtests durchgeführt: Im ersten waren die 0,1 ml Enzymlösung durch 0,1 ml 0,01 M NaPP, pH 7,4 ersetzt. Beim zweiten wurde die Reaktion durch Zugabe von 0,5 ml Boratpuffer, pH 10,0, unmittelbar vor

Komponenten des Reaktions- gemisches	Volumen [μ l]	Konzentration [mM]	Endkonzentration [mM]	[Menge/Ansatz] [μ mol]
NaPP, pH 7,4	200	50	45	22,5
Enzymlösung	100	-	-	-
Histamin	100	0,584	0,117	0,058
SAM ¹⁾	50	5		
¹⁴ C-SAM ²⁾	50	2	0,7	0,35

Tab. 2: Mengen-, Volumen- und Konzentrationsangaben der einzelnen Komponenten des Inkubationsgemisches für die Bestimmung der HMT-Aktivität mittels des Isotopen-Enzymtestes

Enzymprotein, Histamin und nicht radioaktives SAM waren in 0,05M NaPP, pH 7,4 gelöst.

- 1) Die Einwaage muß mit dem Faktor 1,724 multipliziert werden, da nach Angaben des Herstellers nur 58 % der Substanz reines SAM sind.
- 2) Spezifische Aktivität 0,51 mCi/mmol $\hat{=}$ 51 nCi/Ansatz $\hat{=}$ 113.200 dpm/Ansatz

Zugabe des SAM (Zeit 0 min) abgestoppt und das Inkubationsgemisch 60 min bei 37°C gehalten. Diese Blankwerte stimmen mit den Werten, die mit hitzeinaktiviertem Enzym erhalten wurden, überein. Die Werte stiegen von 80 cpm für die zur Zeit 0 min abgestoppten Ansätze an bis auf 150 cpm für die Inkubationen von 60 min. Ein gerätebedingter Background von 30 cpm wurde durch automatische Subtraktion berücksichtigt. Aus den nach verschiedenen Zeiten abgestoppten Ansätzen wurde die Zunahme des in das Toluol/Isoamylalkohol-Gemisch extrahierten ^{14}C - τ -Methylhistamins bestimmt. Von diesen Werten wurden die Nullwerte und zusätzlich die durch die anderen Blanks ermittelte und unspezifisch extrahierte Radioaktivität, die im Durchschnitt bei 1,16 cpm/min (Extremwerte 1,0 - 1,5 cpm/min) lag, abgezogen. Als Reaktionsgeschwindigkeiten wurden dann cpm/min berechnet. Das arithmetische Mittel aus diesen 4 Werten lieferte dann die lineare Anfangsgeschwindigkeit, aus der die spezifische Aktivität der HMT als pmol gebildetes τ -Methylhistamin/(min x mg Protein) errechnet wurde.

Einsatz eines Rechners zur Ermittlung von HMT-Aktivitäten

Der ständig gleichbleibende Rechenvorgang zur Ermittlung der HMT-Aktivitäten in den untersuchten Kaninchenorganen machte den Einsatz eines Rechners sinnvoll. Der von der Messung des gebildeten ^{14}C - τ -Methylhistamins (cpm) zur Bestimmung der spezifischen HMT-Aktivität (pmol/(min x mg Protein)) führende Weg lag als formaler Algorithmus vor.

Die Aufgabe des zu entwickelnden Programmes war, aus Meßwertquadrupeln, die sich gemäß den vier Inkubationszeiten 15, 30, 45 und 60 min ergaben, unter Einbeziehung eines Umrechnungsfaktors und des jeweiligen Proteinwertes (s. 2.2.4.) der Probe, die spezifische

HMT-Aktivität zu berechnen.

Die Dateneingabe erfolgte über Lochkarten. Auf ein detailliertes Flußdiagramm wird hier aus Gründen der Komplexität der einzelnen Algorithmen verzichtet. Das Grobdiagramm gliedert sich in acht Prozeßschritte (s. Tab. 3).

Nach der Operationalisierung des Problems in die Programmierungssprache ALGOL 60 konnte es auf dem TR4-Rechner des Rechenzentrums der Philipps-Universität Marburg (Lahn) automatisiert werden.

2.2.4. Proteinbestimmung mittels der Biuret-Methode

Die spezifische Aktivität für die HMT wurde immer auf die eingebrachte Proteinmenge bezogen. Das Protein wurde hierzu in den Inkubationen mit Rohhomogenaten (UZ-Überstand) mittels der Biuret-Methode (Weichselbaum 1946) bestimmt. Dazu wurde am Photometer (Eppendorf, Hamburg) eine Probe mit Enzympräparat (0,1-1,0 ml $\hat{=}$ 0,5 - 10 mg Protein/ml) bei 546 nm gegen einen Leerwert gemessen, der aus 5,0 ml des Biuret-Reagenz und 5,0 ml physiologischer Kochsalzlösung bestand. Wurde Albumin aus Rinderserum als Referenzsubstanz verwendet, so ergab sich für die Berechnung der Proteinkonzentration (mg/ml) aus der Extinktionsdifferenz (ΔE) bei 0,1 ml eingesetzter Enzymlösung ein Proportionalitätsfaktor von 418.

Sämtliche Eichkurven hatten einen Korrelationskoeffizienten von 0,995 und verliefen nach Abzug des Leerwertes durch den Nullpunkt.

Nr.	Operationen	Erläuterungen
1.	Einlesen der cpm-und Proteinwerte	Meßwertquadrupel für N^T -Methylhistaminbildung und Proteinwerte auf Lochkarten
2.	Wertekorrektur	Subtraktion des zeitlich ansteigenden Leerwertes (0-70 cpm) von den Meßwerten
3.	Berechnung von Regressionsgeraden der Form $y=ax+b$; Konfidenzintervall 95 %	Berechnung der Regressionsgeraden (Reaktionsgeschwindigkeit) in Abhängigkeit von den vier Inkubationszeiten 15,30,45 und 60 min
4.	Subtraktion des Ordinatendenabstandes von den Meßwerten; Kurvennormierung	Abzug der unspezifisch eingebrachten Radioaktivität, damit die Geraden durch den Koordinatensprung verlaufen
5.	Quotientenbildung	Division der Meßwerte durch die entsprechenden Inkubationszeiten
6.	Mittelwertberechnung	Mittelwertbildung der Ergebnisse aus 5
7.	HMT-Aktivitätsberechnung	Errechnung der HMT-Aktivität durch Multiplikation des Mittelwertes mit einem Umrechnungsfaktor und Division des Produktes durch den entsprechenden Proteinwert
8.	Ausgabe	über Schnelldrucker

Tabelle 3:

Grobdiagramm zum Einsatz eines Rechners zur Ermittlung der HMT-Aktivitäten.

2.2.5. Statistische Auswertungen

Zur Berechnung von Mittelwerten, Standardabweichungen und Konfidenzintervallen, die vielfach angegeben wurden, sowie zur Bestimmung der statistischen Signifikanz nach dem Student's t-Test oder dem t-Test für gepaarte Daten (Snedecor & Cochran 1967) wurde ein Tischcomputer (Programma 102, Olivetti, Ivrea) verwendet.

3. Ergebnisse

3.1. Aktivität der HMT in verschiedenen Organen des Kaninchens

Um die Bedeutung des Histaminabbaus in der Kaninchenniere über die Methylierung am Imidazol-Ring abschätzen zu können, wurde zunächst eine Reihe von Kaninchenorganen auf ihren Aktivitätsgehalt an HMT hin untersucht (Tab. 4).

Außer im Muskelgewebe konnte in allen untersuchten Organen HMT-Aktivität nachgewiesen werden. Dabei zeigte der säuresezernierende Teil des Magens, der gesamte Darm, sowie Milz und Haut eine hohe Aktivität, während die Aktivität in der Niere eine Mittelstellung einnahm und in beiden Nieren gleich hoch war, was für die unter 3.2. durchgeführten Unterbindungsversuche an Nierenarterie und Nierenvene (wo in allen Fällen die linken Gefäße unterbunden wurden) von Bedeutung war.

Im nicht säuresezernierenden Magenantrum fand sich eine signifikant ($p < 0,05$) niedrigere HMT-Aktivität als in den proximalen Magenanteilen Fundus und Corpus und dem distal davon gelegenen Dünndarm, der eine 147 % höhere Enzymaktivität ($p < 0,05$) aufwies. Dies ist ein weiterer Hinweis auf die möglicherweise verschiedene Funktion dieses Enzyms in den verschiedenen Magenarealen. Die höchste Einzelaktivität wurde mit 284 pmol/(min x mg Protein) im Colon gefunden.

Organe	n	Enzymaktivität $\left[\frac{\text{pmol}}{\text{min} \times \text{mg Protein}} \right]$	Extremwerte $\left[\frac{\text{pmol}}{\text{min} \times \text{mg Protein}} \right]$
Magen-Fundus	3	146 $\pm$ 37	109 - 183
Magen-Corpus	4	141 $\pm$ 56	92 - 216
Magen-Antrum	4	66 $\pm$ 52	14 - 114
Dünndarm	3	163 $\pm$ 46	119 - 210
Dickdarm	3	235 $\pm$ 42	207 - 284
Pankreas	3	41 $\pm$ 18	35 - 62
Leber	4	22 $\pm$ 14	11 - 41
Milz	4	191 $\pm$ 63	136 - 275
Haut	3	103 $\pm$ 9	94 - 112
Muskel	2	0	
Niere li.	7	79 $\pm$ 21	65 - 114
Niere re.	7	80 $\pm$ 17	58 - 109

Tabelle 4: HMT-Aktivitäten in verschiedenen Organen des Kaninchens

Die Bestimmung der Enzymaktivität ($\bar{x} \pm \text{S.D.}$) erfolgte wie unter 2.2.2. beschrieben.

3.2. Einfluß der Unterbindung von Nierengefäßen auf den Histaminmetabolismus der Kaninchenniere

3.2.1. Unterbindung der Arteria renalis

3.2.1.1. Veränderung des Nierengewichts

Unmittelbar nach der unter 2.1.1. beschriebenen Tötung der Tiere wurden die Nieren rasch entnommen, mittels Sektionsschnitt geöffnet und sofort gewogen. Um eine bessere Vergleichbarkeit zwischen den einzelnen Wertegruppen zu erzielen, wurde das Gewicht der einzelnen Kaninchennieren auf das Körpergewicht des Gesamttieres bezogen (s. Tab. 5 und Abb. 3) und in g Nierengewebe/kg Körpergewicht angegeben.

Nach allen untersuchten Zeitintervallen zeigten die durch Ligatur der linken A. renalis ischämischen Nieren ein erhöhtes Gewicht. Die Anstiege nach ein-, bzw. zweistündiger Ischämie waren nicht signifikant, während die 33 bis 64 % (s. Tab. 5) betragende Gewichtszunahmen nach 4, 12, 24 und 36 Stunden teilweise hoch signifikant waren.

Der Gewichtsanstieg der rechten Kontrollniere nach 36stündiger Ischämiedauer ($p < 0,01$ (Student's t-Test)) gegen die Kontrollgruppe der sofort getöteten Tiere) könnte auf den Beginn einer kompensatorischen Hypertrophie zurückzuführen sein.

Ischämie- dauer [Stdn.]	n	Nierengewicht rechte Kontroll- niere [g/kg]	($\bar{x} \pm$ S.D.) linke ischä- mische Niere [g/kg]	Signifikanz [(t-Test für gepaarte Daten)]
1	6	$3,0 \pm 0,9$	$3,9 \pm 0,5$	n.s.
2	5	$2,8 \pm 0,2$	$3,3 \pm 0,4$	n.s.
4	5	$2,8 \pm 0,2$	$4,6 \pm 0,6$	$p < 0,05$
12	5	$2,6 \pm 0,4$	$3,9 \pm 0,7$	$p < 0,02$
24	7	$3,1 \pm 0,4$	$4,8 \pm 0,6$	$p < 0,001$
36	5	$4,0 \pm 0,4$	$5,3 \pm 0,3$	$p < 0,01$

Tabelle 5 Veränderungen des Kaninchennierengewichtes nach
renalder Ischämie

Das absolute Nierengewicht wurde zur besseren Vergleichbarkeit auf das Gesamt tier bezogen.

Bei den Tieren einer Vergleichsgruppe wurde die A. renalis nicht unterbunden. Das Nierengewicht/kg Körpergewicht betrug für diese Gruppe $3,1 \pm 0,8$ g/kg (n = 14).

3.2.1.2. Veränderungen des Proteingehalts

Zur Abklärung der Nierengewichtszunahme nach Ligatur der zuführenden Arterie wurde der Proteingehalt /g Gewebe bestimmt. Da diese Proteinkonzentration nach 4,12 und 24stündiger Ischämie nicht erhöht ist (s. Abb. 3), andererseits zu diesem Zeitpunkt eine signifikante Erhöhung des Nierengewichtes nachweisbar war, dürfte diese Gewichtszunahme nicht auf eine rein hydropische Schwellung zurückzuführen sein. Eine 36stündige Ischämie hat jedoch eine signifikante Abnahme um 30 % ($p < 0,01$, t-Test für gepaarte Daten) in der Proteinkonzentration zur Folge, was durch ein Ödem oder durch eine beginnende Nekrose bedingt sein könnte. Die Annahme, daß nach dieser Zeit ein Ödem entsteht, wird auch durch das Fehlen einer Zunahme an Gesamtprotein (s.u.) bei zunehmendem Gesamtgewicht unterstützt.

Als Möglichkeit zur Abklärung der Frage einer ödematösen Schwellung der ischämischen Nieren wurde der Gesamtproteingehalt der Einzelnieren berechnet (s. Tab. 6). Dabei zeigte sich bereits nach einstündiger Ischämiedauer eine signifikante Zunahme der Gesamtproteinmenge ($p < 0,025$, t-Test für gepaarte Daten), die bei allen Zeitintervallen bis zu einer 24stündigen Ischämie beobachtet wurden. Nach 36stündiger Ischämie allerdings hatten ischämische und Kontrollnieren den gleichen Proteingehalt. Dies bedeutet, daß während der ersten 24 Stunden eine tatsächliche Gewichts- (s.o.) und Proteinzunahme in den Nieren bei gleichbleibender Proteinkonzentration zu beobachten ist (Abb. 3). Eine Erklärung für dieses Ergebnis war unter Verwendung der zugänglichen Literatur nicht möglich.

Andererseits zeigte sich nach 36stündiger Ischämie bei erhöhtem Nierengewicht und erniedrigter Proteinkonzentration im Gewebe keine Zunahme des Gesamtproteingehalts der Nieren (s. Abb. 3), was auf eine ödematöse Schwellung mit beginnender Nekrose hinweist.

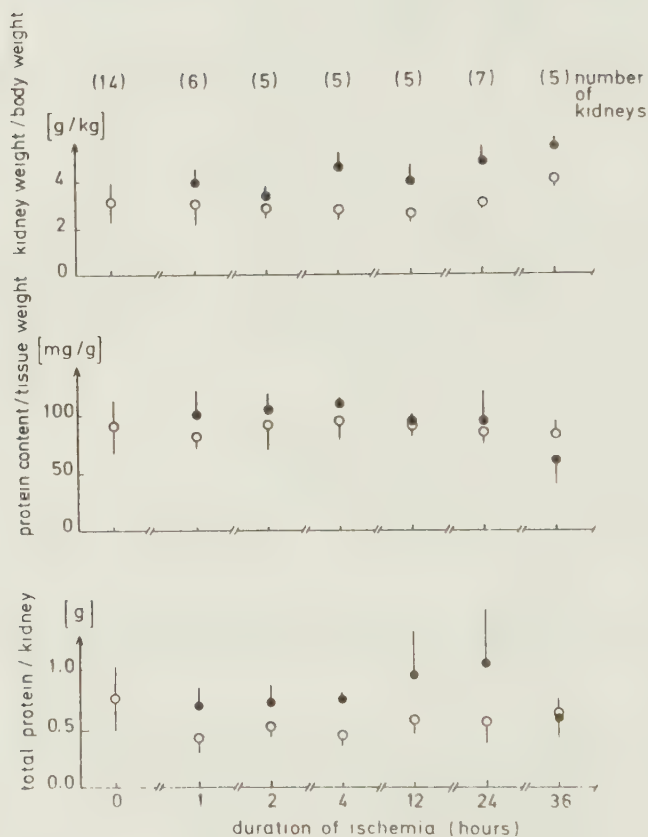


Abb. 3

Veränderungen von Kaninchennierengewicht, Protein-
konzentration und Gesamtprotein/Niere nach Ligatur
der linken A. renalis

Erklärungen zu den Veränderungen des Kaninchennieren-
gewichtes und des Gesamtproteins s. Tab. 5 und Tab. 6.
Werteangaben in $\bar{x} \pm S.D.$ o Kontrollniere, ● ischämische Niere. Weitere Einzelheiten zur Bestimmung der
verschiedenen Meßgrößen s. unter Material und Methoden

Ischämie- dauer [Stdn.]	n	Gesamtprotein rechte Kontroll- niere [mg]	$(\bar{x} \pm \text{S.D.})$ linke ischä- mische Niere [mg]	Signifikanz [t-Test für gepaarte Daten]
1	6	418,5 $\pm$ 125,5	695,7 $\pm$ 163,1	p < 0,025
2	5	522,4 $\pm$ 89,9	718,0 $\pm$ 167,6	n.s.
4	5	446,1 $\pm$ 104,2	752,1 $\pm$ 15,7	p < 0,005
12	5	579,0 $\pm$ 124,4	961,2 $\pm$ 394,1	p < 0,05
24	7	574,9 $\pm$ 205,4	1061,0 $\pm$ 464,8	p < 0,05
36	5	624,6 $\pm$ 132,7	595,8 $\pm$ 191,4	n.s.

Tabelle 6

Veränderung des Gesamtproteingehalts der Niere
nach renaler Ischämie

Bei den Tieren einer Vergleichsgruppe wurde keine Unterbindung der A. renalis durchgeführt. Der Gesamtproteingehalt pro Niere betrug hier 760,9 $\pm$ 276,9 mg (n = 14). Die Proteinwerte wurden mittels der Biuret-Methode (s. 2.2.4.) bestimmt.

3.2.1.3. Veränderungen des Histamingehaltes

Der Histamingehalt von Kaninchennieren war äußerst niedrig und betrug $2,38 \pm 1,05 \mu\text{g/g}$ Gewebe ($n = 38$). Diese Werte liegen an der oberen Grenze der in der Literatur angegebenen Histaminwerte für Kaninchenniere (WATON 1956, GRAHAM et al., 1956). Allerdings wurden dort eine geringere Zahl von Tieren untersucht und andere Bestimmungsmethoden verwendet. Der niedrigste gemessene Wert war 0,57, der höchste 4,26 $\mu\text{g/g}$ Gewebe.

Auf Grund der bereits in den Kontrollnieren vorhandenen großen biologischen Steuerungsbreite kann man nur innerhalb der Gruppen von Tieren, die nach den verschiedenen Ischämieintervallen gebildet wurden, Signifikanzberechnungen anstellen. Signifikante Unterschiede zwischen den einzelnen Kontrollgruppen ergaben sich jedoch in keinem Fall (Verwendung des Student's t-Test).

Bis zu einer 12stündigen Unterbindung der A. renalis ergaben sich keinerlei Veränderungen im Histamingehalt der ischämischen Nieren im Vergleich zu den Kontrollnieren (Abb. 4); 24stündige Unterbindung jedoch hatten einen Abfall von 36 % ($p < 0,005$; t-Test für gepaarte Daten) und 36stündige einen solchen von 57 % ($p < 0,005$) zur Folge. Da einerseits der Histamingehalt auf das Gewicht des Gewebes bezogen und andererseits gezeigt werden konnte (s. 3.2.1.2.), daß nach 36stündiger Ischämie die Niere eine ödematöse Schwellung erleidet (vgl. Abb. 3), ist die Abnahme des Histamingehaltes nach dieser Unterbindungsdauer auf ca. 39 % zu korrigieren. Diese Korrektur unterbleibt für die Histaminwerte aller anderen untersuchten Gruppen. Als Gesamtergebnis beobachtet man demnach keine Änderung des Histamingehaltes bis zu einer 12stündigen Unterbindung der A. renalis, danach allerdings eine starke Abnahme zwischen 12 und 24 Stunden und eine langsamere nach diesem Zeitpunkt.

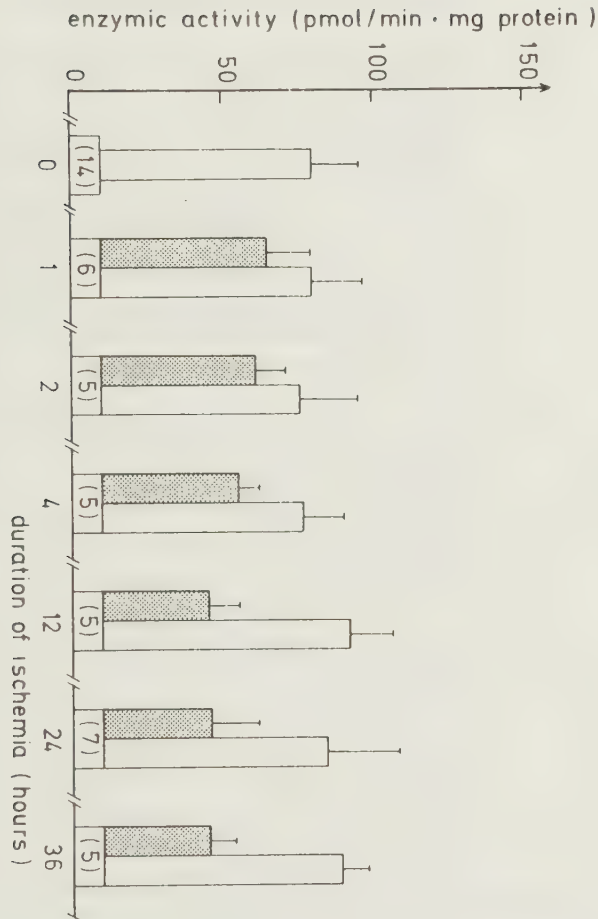


Abb. 4

Histamingehalt von Kaninchennieren nach Unterbindung der linken A. renalis

$\bar{x} \pm S.D.$; (n) Versuchszahl/Untersuchungszeitraum;



rechte Kontrollnieren;



linke ischämische Nieren;

Die Bestimmung des Histamingehaltes erfolgte wie unter 2.2.2. beschrieben.

3.2.1.4. Veränderungen der HMT-Aktivität

Während der Histamingehalt der untersuchten Tiere großen Schwankungen unterlag und deshalb die einzelnen Ergebnisse eine starke Streuung zeigten, die nur einen Vergleich innerhalb der Einzelexperimente zuließ, ergab sich für die HMT-Werte eine wesentlich kleinere biologische Streuung. So lagen die Mittelwerte für die einzelnen Kontrollgruppen zwischen $76,2 \pm 19,1$ und $92,2 \pm 14,4$ pmol/(min x mg Protein) ($\bar{x} \pm$ S.D.). Frisch entnommene Nieren (Ischämiedauer = 0 Stdn.; Abb. 5) zeigten eine Aktivität von $79,6 \pm 18,3$ pmol/(min x mg Protein) ($n = 14$), während alle Kontrollnieren aus den verschiedenen Versuchsgruppen eine mittlere HMT-Aktivität von $82,0 \pm 17,1$ pmol/(min x mg Protein) hatten. In keinem Fall unterschied sich eine Kontrollgruppe von der Gruppe der frisch gewonnenen Nieren zur Zeit $t = 0$ (Abb. 5).

In allen Fällen zeigten ischämische Nieren eine verringerte HMT-Aktivität, sowohl im Vergleich zur jeweiligen Kontrollgruppe, als auch zu den unmittelbar nach Tötung entnommenen Nieren. Nach einer Stunde betrug die Abnahme bereits 18 %. Die erste signifikante Abnahme (28 %; $p < 0,005$; t-Test für gepaarte Daten) konnte nach 4 Stunden beobachtet werden. Nach 12 Stunden war der Abfall dann hochsignifikant und erreichte bereits 50 %. Längere Unterbindungen der A. renalis für 24, bzw. 36 Stunden hatten keine zusätzliche Abnahme der Aktivität zur Folge.

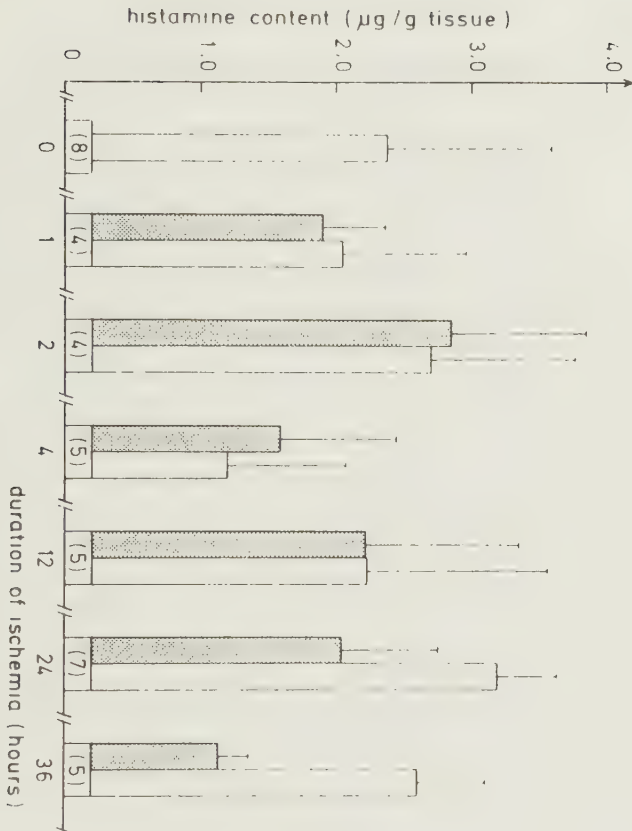


Abb. 5

HMT-Aktivität von Kaninchen nach Unterbindung
der linken A. renalis

$\bar{x} \pm S.D.$; (n) Versuchszahl/Untersuchungszeitraum;

□ rechte Kontrollniere;

▨ linke ischämische Niere;

Die Bestimmung der HMT-Aktivität erfolgte wie
unter 2.2.3. beschrieben.

3.2.2. Unterbindung der Vena renalis

3.2.2.1. Veränderungen des Nierengewichtes

Ebenso wie nach Unterbindung der A. renalis kommt es nach Verschuß der V. renalis zu einem Anstieg des Gewichtes der von der Blutzirkulation ausgeschlossenen Niere (Abb. 6, bezüglich der Angaben des Nierengewichtes in g/kg Körpergewicht des Gesamttieres s. 3.2.1.1.). Diese Gewichtszunahme ist jedoch wesentlich ausgeprägter und beträgt nach 15 min 97 % (50 - 144 %, 95 % Konfidenzintervall), nach 30 min 79 % (59 - 99 %), nach 1 Std. 125 % (111 - 139 %), nach 2 Stdn. 129 % (83 - 175 %) und nach 4 Stdn. 165 % (161 - 169 %). Trotz der kleinen Versuchszahl von 3 Tieren pro Untersuchungszeitraum ist wegen der hohen Gewichtszunahme nach 1, 2 und 4 Stunden dieser Anstieg signifikant ($p < 0,05$ (für die 1- und 4-Stdn.-Werte) bzw. $p < 0,02$ (für die 2-Stdn.-Werte); t-Test für gepaarte Daten). Auffallend ist die rasche Gewichtszunahme innerhalb der ersten Stunde, die auf eine erhöhte Plasmafiltration und auf ein dadurch hervorgerufenen starkes Ödem zurückzuführen sein dürfte.

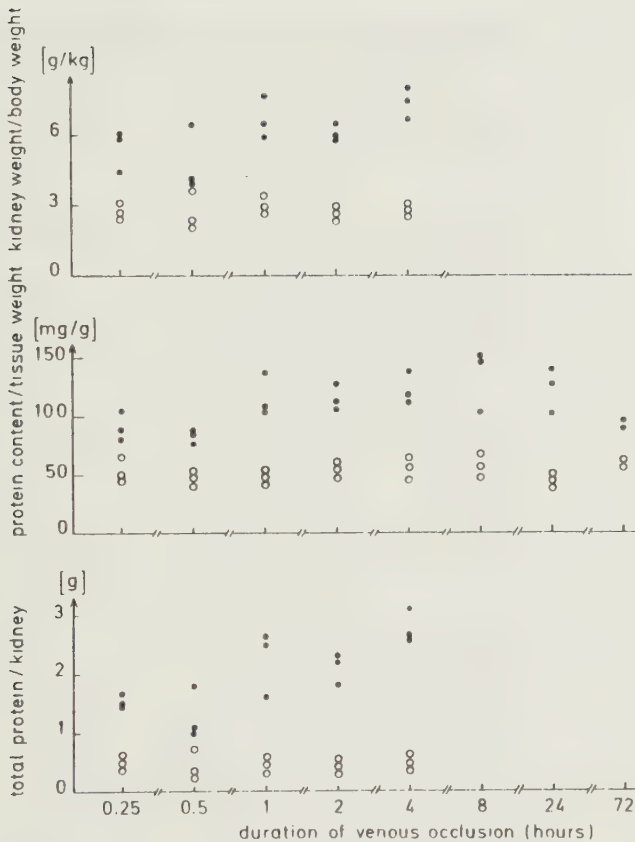


Abb. 6

Veränderungen von Kaninchennierengewicht, Protein-
konzentration und Gesamtprotein/Niere nach Ligatur
der linken V. renalis

Angaben der Einzelwerte;

- Kontrollniere ;
 - von der Blutzirkulation ausgeschlossene Niere;
- n = 3 für jeden Untersuchungszeitraum.

Weitere Einzelheiten zur Bestimmung der verschie-
denen Meßgrößen s. unter Material und Methoden.

3.2.2.2. Veränderungen des Proteingehaltes

Daß das erhöhte Nierengewicht nach Unterbindung der entsprechenden V. renalis zum größten Teil auf die vermehrte Plasmafiltration zurückgeführt werden muß, zeigt sich auch bei der Untersuchung des Proteingehaltes/g Gewebe und des Proteingehaltes/Gesamtniere (Abb. 6).

Der Proteingehalt/g Gewebe nimmt parallel dem Nierengewicht zu und ebenso wie dort sind auch hier die Zunahmen schon nach einer Unterbindung von 30 min signifikant ($p < 0,02$; t-Test für gepaarte Daten). Diese Signifikanz bleibt bis zu einer Unterbindungszeit von 24 Stunden bestehen. Im Einzelnen betragen die Zunahmen nach 15 min 73 % (48 - 98 %), nach 30 min 80 % (44 - 116 %), nach 1, 2, 4, 8 und 24 Stunden 146 % (94 - 198 %), 114 % (84 - 114 %), 121 % (71 - 171 %), 136 % (79 - 193 %), 179 % (156 - 202 %). Nach 72 Stunden beträgt die Zunahme in der Proteinkonzentration noch 57 %, ist aber bei der kleinen Versuchszahl nicht signifikant.

Die ausschließliche Zunahme sowohl des Gesamtgewichtes der Niere, als auch deren Proteingehalt ergibt zwangsläufig in allen Fällen eine Zunahme des Gesamtproteins pro Gesamtniere. Da sich die beiden Größen Gewicht und Proteinkonzentration multiplizieren, sind diese Zunahmen besonders hoch, wobei die Signifikanzen der Gesamtproteinsteigerung gleich oder größer als diejenigen sind, welche bei den Nierengewichten berechnet wurden.

3.2.2.3. Veränderungen des Histamingehaltes

Zu den verschiedenen Unterbindungszeiten der linken V. renalis zeigten ähnlich wie bei den Unterbindungen der A. renalis die rechten Kontrollnieren eine relativ starke Streuung im Histamingehalt, so daß die Mittelwerte für die Gruppen mit dem niedrigsten Histamingehalt $0,78 \pm 0,19$ ($\bar{x} \pm \text{S.D.}$)/ $\mu\text{g/g}$ und für die mit dem höchsten $1,78 \pm 0,61$ / $\mu\text{g/g}$ betrug.

Letzterer Wert wird allerdings durch einen überhöhten Wert eines Tieres ($2,48$ / $\mu\text{g/g}$) verursacht (vgl. Abb. 7), das auch die höchste HMT-Aktivität zeigte (s. 3.2.2.4.), was auf einen allgemein erhöhten Histaminstoffwechsel hinweist, wie er auch bei Kaninchen mit Hydronephrose nach Unterbindung des Ureters beobachtet wurde (BARTH et al., 1974, 1975). Ohne Berücksichtigung dieses Wertes ist der höchste Mittelwert einer Kontrollgruppe $1,45 \pm 0,27$ / $\mu\text{g/g}$. In keinem Fall unterscheidet sich einer der Kontrollgruppenmittelwerte von dem für eine weitere Kontrollgruppe von 6 scheinbehandelten Tieren gefundenen Mittelwert von $0,95 \pm 0,43$ / $\mu\text{g/g}$.

Der Histamingehalt der durch Unterbindung der V. renalis von der Blutzirkulation ausgeschlossenen Niere zeigt einen biphasischen Verlauf (Abb. 7). Einem starken Anstieg innerhalb der ersten Stunde folgt ein ständiger Abfall, der bis zum Ende der Untersuchungen nach 72 Stunden anhält. Der initiale Anstieg innerhalb der ersten 15 min beträgt 201 % (37 - 365 % (95 % Konfidenzintervall)) und nach 30 min 282 % (122 - 442 %) mit einer Signifikanz von jeweils $p < 0,05$ (t-Test für gepaarte Daten). Nach 1, 2 und 4stündiger Unterbindung wurden die Zunahmen wieder geringen 78 % (12 - 148 %), 68 % (-33 - 169 %) und 22 % (-75 - 119 %) und nach 8, 24 und 72 Stunden stellt man eine Abnahme des Histamingehaltes der unterbundenen Nieren fest.

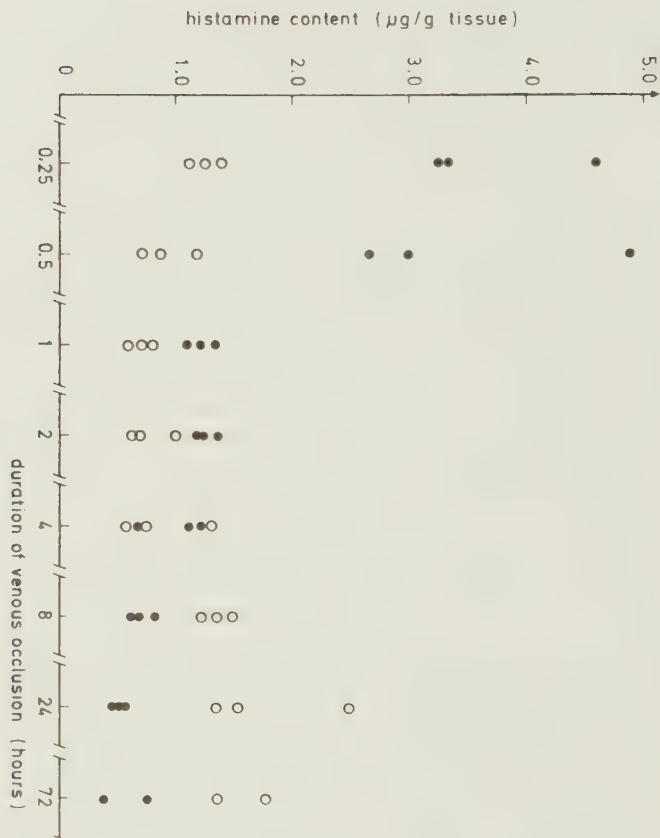


Abb. 7

Histamingehalt von Kaninchennieren nach Unterbindung der linken V. renalis

Angaben der Einzelwerte;

○ Kontrollnieren;

● von der Blutzirkulation ausgeschlossene Nieren;

n = 3 für jeden Untersuchungszeitraum.

Die Bestimmung des Histamingehaltes erfolgt wie unter 2.2.2. beschrieben.

Diese betrugen 48 % (43 - 53 %), 69 % (41 - 97 %) bzw. 59 % (24 - 94 %). Diese Abnahmen sind bereits nach 4stündiger Unterbindung signifikant ($p = 0,05$; t-Test für gepaarte Daten).

3.2.2.4. Veränderungen der HMT-Aktivität

Wie die Unterbindung der A. renalis ist auch die Unterbindung der linken V. renalis ohne jeden Einfluß auf die HMT-Aktivität der kontralateralen rechten Kontrollniere. In keinem Fall unterscheiden sich die Mittelwerte der entsprechenden Gruppen (jeweils 3 Tiere) von dem für eine Kontrollgruppe von 6 scheinoperierten Tieren gefundenen Wert von $110,5 \pm 18,4$ pmol / (min x mg Protein) ($\bar{x} \pm S.D.$). Auch in der absoluten Höhe stimmten die hier gemessenen Werte mit den bei Unterbindung der A. renalis gefundenen sehr gut überein.

Bei der Unterbindung der V. renalis nimmt abhängig von der Zeit der Unterbindung ebenso wie bei der Unterbindung der A. renalis die Aktivität der HMT ständig ab (Abb. 8). Diese Abnahme ist jedoch wesentlich ausgeprägter und verläuft rascher. So bewirkt eine 1stündige Unterbindung der A. renalis lediglich eine ca. 20 %ige Verringerung der HMT-Aktivität, eine gleich lange Unterbrechung der V. renalis dagegen eine solche um 69 % (49 - 89 % (95 % Konfidenzintervall)). Eine 50 %ige Abnahme der Aktivität findet man nach Abbindung der A. renalis frühestens nach 12 Stunden, aber bereits innerhalb der ersten 15 min nach Abbindung der V. renalis. Im weiteren Verlauf nimmt die Aktivität des Enzyms kontinuierlich ab, um nach 72 Stdn. Werte zu erreichen, die von 0 nicht mehr zu unterscheiden sind.

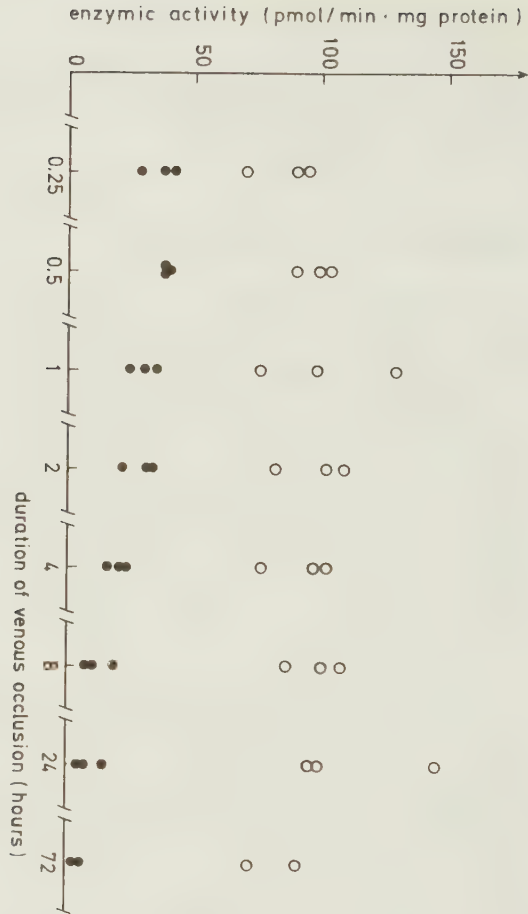


Abb. 8

HMT-Aktivität von Kaninchennieren nach Unterbindung der linken V. renalis

Angaben der Einzelwerte;

- Kontrollnieren;
- von der Blutzirkulation ausgeschlossene Nieren;

n = 3 für jeden Untersuchungszeitraum.

Die Bestimmung der HMT-Aktivität erfolgte wie unter 2.2.3. beschrieben.

Die Signifikanz der Abnahme ist hoch (bereits nach 30 min Unterbindung $p < 0,05$; t-Test für gepaarte Daten). Auch in diesem vollständigen Verschwinden der Enzymaktivität besteht ein Unterschied zu den Verhältnissen bei der Unterbindung der *A. renalis*, wo innerhalb der ersten 12 Stdn. zwar die erwähnte Abnahme beobachtet wird, eine weitere Verminderung der Enzymaktivität in den folgenden 24 Stdn. allerdings nicht mehr festgestellt werden kann (vgl. Abb. 5).

4. Diskussion

4.1. Verteilung der HMT-Aktivität in Kaninchenorganen

Über die Aktivität der HMT in den verschiedensten Kaninchenorganen liegen bereits eine Reihe von Werten vor (BROWN et al., 1959; LINDAHL, 1960; KIM et al., 1969; SURIYACHAN & THITHAPANDHA, 1972). Allerdings sind diese mit den unterschiedlichsten Methoden und teilweise nur halbquantitativ erfaßt worden, so daß ein Vergleich spezifischer Aktivitäten unmöglich wird. Eine genauere Untersuchung des Enzyms wurde bisher nur im Darm vorgenommen (SURIYACHAN & THITHAPANDHA, 1972).

Die in dieser Arbeit gefundenen hohen HMT-Aktivitäten in Magen, Haut und Niere des Kaninchens sind mit den von BROWN et al. (1959) berichteten Werten vergleichbar. Widersprüche bestehen bei den Werten für die Milz und den Dünndarm, wo diese Autoren niedrige HMT-Aktivitäten finden, und bei Muskelgewebe, wo in dieser Arbeit keine, von BROWN et al. (1959) aber sehr wohl eine Methylierung des Histamins nachgewiesen werden konnte.

Auffallend ist die gegenüber Fundus- und Corpusbereich stark erniedrigte HMT-Aktivität im Antrum, was mit dem von KIM et al. (1969) gefundenen 50 %igen HMT-Aktivitäts-Abfall beim Übergang von Kaninchen-corpus- zu -antrum mucosa sehr gut übereinstimmt. Die Aktivitätsverteilung steht im Gegensatz zu den Verhältnissen bei den meisten bisher auf HMT-Verteilung im Magen untersuchten Spezies wie Mensch, Schwein und Hund, wo in allen Fällen die höchste Enzymaktivität des Magens im Antrumbereich gefunden wird (BARTH, 1974). Lediglich bei Meerschweinchen eines bestimmten Stammes (Pirbright) konnte eine ähnliche HMT-Aktivitäts-Verteilung mit signifikant

niedrigeren Werten im nicht säuresezernierenden Teil des Magens gefunden werden (STENNER, 1976).

Die verglichen mit dem säuresezernierenden Teil des Magens gleich hohen und gegenüber dem Antrum stark erhöhten spezifischen Enzymaktivitäten des Dünndarms werden auch von KIM et al. (1969) berichtet, ebenso die im Vergleich zum Dünndarm höhere Aktivität des Dickdarmes. Diese hohe Aktivität in den drüsigen Anteilen des Magen-Darm-Traktes ist ein weiterer Hinweis auf die möglicherweise generelle Funktion der HMT und damit des Histamins bei sekretorischen Prozessen.

Die Höhe der HMT-Aktivität der Kaninchennieren nahmen im Vergleich zu den anderen Organen eine Mittelstellung ein. Setzt man jedoch die HMT-Aktivität in Beziehung zum Histamingehalt, so zeigt sich, daß das Methylierungsvermögen des Nierengewebes sehr hoch ist, da der Histamingehalt dieses Gewebes mit ca. 1 - 4 $\mu\text{g/g}$ (s. 3.2.1.3. und Abb. 4) um eine bis zwei Größenordnungen unter dem des Gastrointestinaltraktes oder der Haut liegt. Dies erscheint umso wichtiger, als von KUSCHE et al. (1975) gezeigt werden konnte, daß die Niere eines derjenigen Kaninchenorgane ist, das keine Diaminoxidase enthält und das somit den größten Teil des Histamins durch Methylierung metabolisieren muß.

4.2. Veränderungen des Histamingehaltes der Nieren bei akuter Nierenarterien- bzw. -venenunterbindung.

Trotz der guten Kenntnisse über die pharmakologischen Wirkungen von Histamin auf die Nierendurchblutung ist nichts über den Histamingehalt unter pathophysiologischen Bedingungen bekannt, die durch eine Minderdurchblutung der Niere bedingt sind (s. 1.2.) oder eine solche zur Folge haben.

In dieser Arbeit zeigt sich nun, daß die Veränderungen des Histamingehaltes bei Unterbindung der Nierenarterie bzw. -vene unterschiedlich verlaufen. Bei Occlusion der Nierenarterie kommt es nach ca. 12 Stdn. zu einem signifikanten Abfall des Histamingehaltes in der occludierten Niere. Dies dürfte auf einer Aktivitätsabnahme der in den Glomeruli enthaltenen, spezifischen Histidindecaboxylase (HEALD & HOLLIS, 1976) zurückzuführen sein, da nach 3-tägiger Ischämie keine Aktivität dieses Enzyms mehr nachzuweisen war (WERLE & LELLMANN, 1945). Die Abnahme an Histidindecaboxylaseaktivität bewirkt in der Niere deshalb einen so ausgeprägten Abfall der Histaminkonzentration, da dieses Organ außer dem in den Endothelien der Glomeruli gespeicherten Histamin nur sehr vereinzelt Mastzellen besitzt, deren Dichteverteilung zudem nicht mit der Histaminkonzentration parallel läuft (JUHLIN, 1967).

Die Schwankungen der zu den verschiedenen Versuchsintervallen gehörenden Mittelwerte der Kontrollnieren untereinander (Mittelwerte zwischen ca. 1 und 3 $\mu\text{g/g}$) ist wahrscheinlich auf die starke biologische Streuung, die auch innerhalb der einzelnen Gruppen festzustellen ist, zurückzuführen. Allerdings konnten KHOVANSKAYA & ERMOLAEV (1975) bei ähnlichen Untersuchungen, bei denen die Veränderung des Serotoningehaltes nach Unterbindung der A. renalis bei Kaninchen verfolgt wurde, zeigen, daß es parallel zu den Schwankungen des Gehaltes an biogenen Aminen in den ischämischen Nieren auch zu solchen in den Kontrollnieren kommen kann, wofür die Operationsmanipulation, der Operationsstreß und eine veränderte Aufnahme dieser biogenen Amine in Thrombozyten verantwortlich sein dürften.

Allerdings laufen die in dieser Arbeit festgestellten

Schwankungen des Histamingehaltes denen von diesen Autoren für das Serotonin beschriebenen nicht parallel.

Nach Unterbindung der Nierenvenen nimmt innerhalb der ersten 30 min der Histamingehalt stark zu, um dann nach vier Tagen eine ähnliche Abnahme wie nach Occlusion der A. renalis zu zeigen. Dieser stark erhöhte Histamingehalt zu Beginn der lediglich verminderten Nierendurchblutung (Kollateralen über Nebennierenvenen, Kapselvenen, Uretervenen und V. ovarica bzw. spermatica links (vgl. McCULLOUGH & GITES, 1975) kann nicht auf einer erhöhten Bildung beruhen, da die Aktivität der Histidindecaboxylase unter diesen Bedingungen stark abnimmt (WERLE et al., 1940). Wahrscheinlich kommt das Histamin in diesem Fall auf Grund der herabgesetzten Durchblutung aus den zerfallenen Thrombozyten, da diese Zellen speziesspezifisch beim Kaninchen einen sehr hohen Histamingehalt aufweisen (HUMPHREY & JAKES, 1954; PAASONEN & SOLATURTURI, 1965; BAK et al., 1967). Im weiteren Verlauf der Blutstase gleichen die Verhältnisse denen bei der Arterienunterbindung (s.o.). Die passagere Erhöhung des Histamingehalts nach 15- bzw. 30-minütiger Venenocclusion entspricht sehr gut dem von BARTH et al. (1974, 1975) beschriebenen erhöhten Histamingehalt nach eintägiger Ureterunterbindung, da im Rahmen der entstehenden Hydronephrose durch den erhöhten Innendruck der Niere die Venen allmählich verschlossen werden (BELL et al., 1971).

Da einerseits HINSHAW et al. (1963), die Histamin als einen der durchblutungsfördernden Faktoren nach zeitweiliger Nierenarterienligatur diskutierten, vor allem nach kurzzeitiger Unterbrechung der Nierendurchblutung eine reaktive Hyperaemie beobachteten, und da andererseits auch in dieser Arbeit vor allem bei den kürzesten Unterbrechungen der Nierenzirkulation

(15- und 30-minütige Unterbindung der V. renalis) stark erhöhte Histaminwerte im Nierenparenchym gefunden wurden, könnte dem Histamin durchaus eine entscheidende Rolle bei dieser reaktiven Hyperämie zukommen.

4.3.

Veränderung der HMT-Aktivität bei akuter Nieren-
arterien- bzw. -venenunterbindung.

Sowohl nach Unterbindung der A. wie der V. renalis nahm die HMT-Aktivität ab. Diese Abnahme verlief jedoch bei arterieller Unterbindung langsamer, erreiche nach 12 Stdn. ca. 50 % der Kontrollwerte und kam dann während der weiteren Untersuchungen zum Stillstand. Diese Abnahme der Enzymaktivität, gefolgt von einer Phase gleichbleibenden Histaminabbaus, wurde schon von WERLE & LELLMANN (1945) für die "Histaminase" (Bedeutung s.o.) beschrieben, die damit eine wesentlich höhere Stabilität als die Histidindecaboxylase zeigte.

Die rasche Abnahme der HMT-Aktivität bei Unterbindung der V. renalis ist damit zu erklären, daß in dieser Arbeit die Enzymaktivität immer auf die eingebrachte Proteinmenge bezogen wurde. Da die venös gestauten Nieren aber einen sehr hohen Proteinanteil (vgl. WERLE et al., 1940) zeigten, mußte bei gleichzeitig zurückgehendem Substratumsatz eine sehr geringe, bei den 72 h-Werten kaum mehr bestimmbare spezifische HMT-Aktivität resultieren.

Bei einem Vergleich der Veränderungen der HMT-Aktivität bei Nierengefäß- und Ureterunterbindung (vgl. NABER et al., 1977) zeigte sich, daß die nur kurz andauernde Erhöhung der Histaminkonzentration bei Venenocclusion keine Erhöhung der HMT-Aktivität nach sich zog, während die andauernde Erhöhung des Histamingehalts während akuter Hydronephrose die Enzym-

aktivität innerhalb von 5 Tagen auf das 3-4-fache zu steigern vermochte. Genau gegenläufig dem HMT-Anstieg fiel die Histaminkonzentration innerhalb dieses Zeitraumes wieder auf normale Werte ab (BARTH et al., 1975). Zur Ausbildung einer solchen adaptativen Veränderung bei akutem Verschuß der V. renalis waren (1) die Effekte scheinbar zu kurz und (2) die Blutzirkulation und damit die Sauerstoffversorgung über die Kollateralvenen scheinbar doch zu schlecht.

Zusammenfassung

Die Wirkung von Histamin und die Veränderung im Stoffwechsel dieses Stoffes wurde bei Erkrankungen des Urogenitalsystems bisher kaum untersucht. Da dieses biogene Amin unter pathophysiologischen Bedingungen für die Durchblutungsregulation der Niere von großer Wichtigkeit sein dürfte, wurden dessen Konzentration sowie dessen einziger Abbauweg (Methylierung am Imidazolring) nach Unterbindung der A. bzw. V. renalis sowohl in der unterbundenen als auch in der kontralateralen Niere von Kaninchen untersucht.

1. Die Histaminkonzentration normaler Kaninchennieren betrug $1 - 4 \mu\text{g/g}$ Gewebe, die HMT-Aktivität $58 - 114 \text{ pmol}/(\text{min} \times \text{mg Protein})$ ($n = 14$). Damit zeigte die Kaninchenniere bei einem äußerst geringen Histamingehalt ein hohes Methylierungsvermögen für diesen unter pathologischen Zuständen liberierten Mediator.
2. Nach Unterbindung der A. renalis stieg das Gewicht der für 4 Stdn. länger von der Blutzirkulation ausgeschlossenen Nieren um $33 - 64 \%$ an. Während die Ursache dieser Gewichtszunahme nicht geklärt werden konnte, dürfte der nach 36 Stdn. beobachtete Gewichtsanstieg der kontralateralen Niere auf einer kompensatorischen Hypertrophie beruhen. Die nach Ligatur der V. renalis beobachtete Gewichtszunahme der Nieren war wesentlich ausgeprägter ($79 - 165 \%$) als die nach Ligatur der A. renalis gefundene. Die Ursache dürfte hier in einer erhöhten Plasmafiltration und einem dadurch hervorgerufenen starken Ödem liegen.

3. Bis zu einer 12-stündigen Unterbindung der A. renalis veränderte sich der Histamingehalt der unterbundenen Niere nicht von dem der kontralateralen Kontrollnieren, während es nach diesem Zeitpunkt zu einer starken Konzentrationsabnahme dieses Chemotransmitters kam. Bei Unterbindung der V. renalis konnte eine Abnahme des Histamingehalts schon nach 4 Stdn. beobachtet werden. Vor diesem Zeitpunkt nahm der Histamingehalt sogar bis zu 282 % (bei 30-minütiger Unterbindung) zu.
4. Sowohl bei Unterbindung der A. wie auch der V. renalis nahm die Aktivität der HMT stark ab. Bei Unterbindung der Vene erfolgte dieser Aktivitätsabfall allerdings wesentlich ausgeprägter und schneller. Da trotz einer Abnahme der Methylierungskapazität kein genereller Anstieg der Histaminkonzentration erfolgte, muß die Abnahme des Histamingehalts mit der schon früher von anderen Autoren beschriebenen starken Aktivitätsabnahme des Enzyms Histidindecaboxylase, unter dessen Katalyse Histamin aus Histidin gebildet wird, erklärt werden.

6. Literaturverzeichnis

ANREP, G.V., BARSOUM, G.S., TALAAT, M.:

Histamine destruction by the kidney.

J. Physiol. 86, 55 P - 56 P (1936)

ARNHOLDSSON, H., HELANDER, C.G., HELANDER, E., LINDELL, S.E.

LINDHOLM, B., OLSSON, O., ROOS, B.E., SVANBORG, A., SÖDER-

HOLM, B., WESTLING, H.:

Elimination of C¹⁴-histamine from the blood in man.

Scand. J. Clin. Lab. Invest. 14, 241 - 246 (1962)

AZIZ, A.A.:

Histamine inactivation in rat kidney slices.

Biochem. J. 80, 50 P - 50 P (1961)

BABICS, A., RÉNY-VÁMOS, F.:

Die aszendierende Pyelonephritis.

Acta Med. Acad. Sci. Hungar. 3, 15 - 34 (1952)

BAK, J.J., HASSLER, R., MAY, B., WESTERMANN, E.:

Morphological and biochemical studies on the storage of serotonin and histamine in blood platelets of the rabbit.

Life Sci. 6, 1133 - 1146 (1967)

BARTH, H., LORENZ, W., NIEMEYER, I.:

Inhibition and activation of histamine methyltransferase by methylated histamines.

Hoppe Seyler's Z. Physiol. Chem. 354, 1021 - 1026 (1973)

BARTH, H., NIEMEYER, I., LORENZ, W.:

Studies on the mode of action of histamine H₁- and H₂-receptor antagonists on gastric histamine methyltransferase.

Agents Actions 3, 138 - 147 (1973 a)

BARTH, H.:

Histaminmethyltransferase in der Magenschleimhaut des Menschen und verschiedener Säugetiere: Anreicherung, Eigenschaften, Wirkungsmechanismus und Beeinflußbarkeit durch Histamin-Rezeptor - Antagonisten. Ein Betrag zur Diskussion des Histamins als einem physiologischen Chemostimulator der Magensaftsekretion.

Dissertation, Universität München (1974)

BARTH, H., NABER, K., NIEMEYER, I., BICHLER, K.H.,

LORENZ, W.:

Histamine concentration and histamine methyltransferase activity of rabbit kidney during experimental hydronephrosis.

Brit. J. Surg. 61, 918 - 918 (1974)

BARTH, H., NABER, K., BARTHEL, K.E., NIEMEYER, I.,

LORENZ, W.:

Induction of histamine methyltransferase during experimental hydronephrosis: a mechanism of adaptation for histamine homeostasis in rabbit kidney. Agents Actions 5, 442 - 443 (1975)

BARTH, H., LORENZ, W., NIEMEYER, I.:

Properties and reaction mechanism of gastric histamine methyltransferase.

Abstracts 6th Intern. Cong. Pharmacol. 96 - 96, Helsinki (1975 a)

BELL, R.D., ORNITZ, R.D., TRAUTMAN, R., ANDERSEN, J.L.,

KEYL, M.J.:

The significance of the renal pelvis and intrarenal veins in renal lymph formation.

Invest. Urol. 9, 149 - 153 (1971)

BEST, C., McHENRY, E.:

The inactivation of histamine.

J. Physiol. 70, 349 - 372 (1930)

BHARGAVA, K.P., KULSHRESTA, V.K., SANTHAKUMARI, G.,
SRIVASTAVA, U.P.:

Mechanism of histamine induced antidiuretic
response.

Brit. J. Pharmacol. 47, 700 - 706 (1973)

BJERING, T.:

The influence of histamine on renal function.

Acta Med. Scand. 91, 267 - 278 (1937)

BLACKMORE, W.P., WILSON, V.E., SHERROD, T.R.:

The effect of histamine on renal hemodynamics.

J. Pharmacol. Exp. Ther. 109, 206 - 213 (1953)

BÖKESÖY, T.A., TÜRKER, R.K.:

The presence of histamine H₂-receptors in the
rabbit kidney.

Arch. Int. Pharmacodyn. Ther. 209, 144 - 149 (1974)

BROWN, D.D., TOMCHICK, R., AXELROD, J.:

The distribution and properties of a histamine-
methylating enzyme.

J. Biol. Chem. 234, 2948 - 2950 (1959)

CAMPBELL, W.B., ITSKOVITZ, H.D.:

Effect of histamine and antihistamines on renal
hemodynamics and functions in the isolated per-
fused canine kidney.

J. Pharmacol. Exp. Therap. 198, 661 - 667 (1976)

DALE, H.H., LAIDLAW, P.P.:

The physiological action of β -iminazoly-ethylamine.

J. Physiol. 41, 318 - 344 (1910)

EMMELIN, N.:

The disappearance of injected histamine from
the blood stream.

Acta Physiol. Scand. 22, 379 - 390 (1951)

ERCAN, Z.S., TÜRKER, R.K.:

Potentialiation of the effect of histamine by PGE_2
in the isolated perfused rabbit kidney and guinea-
pig-lung.

Experientia 31, 333 - 334 (1975)

GRAHAM, H.T., HANNEGAN, T.W., NOWSE, C.M.:

Dependence of tissue histamine content on local
histidine decarboxylase activity.

Biochim. Biophys. Acta 20, 243 - 250 (1956)

HEALD, J.J., HOLLIS, Th. M.:

Histidine decarboxylase-mediated histamine synthesis
in glomeruli from rat kidneys.

Amer. J. Physiol. 230, 1349 - 1353 (1976)

HELANDER, C.G., LINDELL, S.E., WESTLING, H.:

The renal removal of C^{14} -labelled histamine from
the blood in man.

Scand. J. Clin. Lab. Invest. 17, 524 - 528 (1965)

HINSHAW, L.B., PAGE, B.B., BRAKE, C.M., EMERSON, T.E.J.R.:

Mechanism of intrarenal hemodynamic changes follo-
wing acute arterial occlusion.

Amer. J. Physiol. 205, 1033 - 1041 (1963)

HUMPHREY, J.H., JAUQUES, R.:

The histamine and serotonin content of the plate-
lets and polymorphonuclear leukocytes of various
species.

J. Physiol. 124, 305 - 310 (1954)

JUHLIN, L.:

Determination of histamine in small biopsies and
histological sections.

Acta Physiol. Scand. 71, 30 - 36 (1967)

KHOVANSKAYA, T.P., ERMOLAEV, M.V.:

Serotonin and 5-hydroxyindole-acetate in acute renal ischemia.

Bull. Exp. Biol. Med. 80, 1046 - 1048 (1975)

KIM, K.S., BACKUS, B., HARRIS, M., ROURKE, P.:

Distribution of diamine oxydase and imidazole-N-methyltransferase along the gastrointestinal tract.

Comp. Biochem. Physiol. 31, 137 - 145 (1969)

KUSCHE, J., RICHTER, H., SCHMIDT, J., HESTERBERG, R.,
FRIEDRICH, A., LORENZ, W.:

Diamine oxydase in rabbit small intestine:
separation from an soluble monoamine oxidase,
properties and pathophysiological significance
in intestinal ischemia.

Agents Actions 2, 431 - 439 (1975)

LINDAHL, K.M.:

On the biological methylation of histamine.

Acta. Chem. Scand. 12, 2050 - 2051 (1958)

LINDAHL, K.M.:

On the biological methylation of histamine.

Acta Chem. Scand. 12, 1690 - 1691 (1958 a)

LINDAHL, K.M.:

The histamine methylating enzyme system in liver.

Acta Physiol. Scand. 49, 114 - 138 (1960)

LINDBERG, S., LINDELL, S.E., WESTLING, H.:

Formation and inactivation of histamine by human foetal tissues in vitro.

Acta Obstet. Gyn. Scand. 42, 49 - 58 (1963)

LINDELL, S.E.:

Observations on the inactivation of C¹⁴-histamine by human renal tissues in vitro.

Kungl. Fysiogr. Sällsk. Lund. Föhr. 28, 15 - 19 (1958)

LORENZ, W., BARTH, H., WERLE, E.:

Histamine and histamine methyltransferase in the gastric mucosa of man, pig, dog and cow.

Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 267, 421 - 432 (1970)

LINDELL, S.E., SCHAYER, R.W.:

The renal removal of injected ^{14}C -histamine from the blood in dogs.

Brit. J. Pharmacol. 13, 44 - 51 (1958)

McCULLOUGH, D.L., GITTES, R.F.:

Ligation of the renal vein in the solitary kidney: effects on renal function.

J. Urol. 113, 295 - 298 (1975)

NABER, K.G., BARTH, H., BARTHEL, K.E., NIEMEYER, I.,

HERRMANN, K.R., BICHLER, K.H., LORENZ, W.:

Comparison of histamine content and histamine methyltransferase activity in rabbit kidney following ureteric, arterial and venous obstruction.

Urol. Res. 5, 44 - 44 (1977)

NETTER, K.J., COHN, V.H.jr., SHORE, P.A.:

Sex difference in histamine metabolism in the rat.

Am. J. Physiol. 201, 224 - 226 (1961)

NETTER, K.J., BODENSCHATZ, K.:

Inhibition of histamine-N-methylation by some antihistamines.

Biochem. Pharmacol. 16, 1627 - 1631 (1967)

PAASONEN, M.K., SOLATUNTURI, E.:

The release of histamine, potassium and nitrogen from blood platelets by chlorpromazine in vitro.

Ann. Med. Exp. Fern. 43, 241 - 244 (1965)

REUBI, F.C., FUTCHER, P.H.:

The effects of histamine on renal function in
hypertensive and normotensive subjects.
J. Clin. Invest. 28, 440 - 446 (1949)

SINCLAIR, R.J., BELL, R.D., KEYL, M.J.:

Effect of prostaglandin E_2 and histamine on renal
fluid dynamics.
Amer. J. Physiol. 227, 1062 - 1066 (1974)

SNEDECOR, G.W., COCHRAN, W.G.:

Statistical methods (6th edition)
Iowa State University Press, Ames, Iowa (1968)

SNYDER, S.H., AXELROD, J.:

Sex differences and hormonal control of histamine
methyltransferase activity.
Biochim. Biophys. Acta 11, 416 - 421 (1965)

STENNER, W.:

Histaminmethyltransferase im Magen des Meerschwein-
chens: Vorkommen, Anreicherung, Eigenschaften und
Beeinflußbarkeit durch Magensaftstimulationen.
Dissertation, Universität Marburg (1976)

SURIYACHAN, D., THITHAPANDHA, A.:

Distribution and heterogeneity of histamine N-
methyltransferase.
Biochem. Biophys. Res. Comm. 48, 1199 - 1207 (1972)

THITHAPANDHA, A., SRINOOT, P.:

Comparative inhibitory effects of vitamins on
methylating enzymes.
Comp. Gen. Pharmacol. 3, 139 - 144 (1972 a)

VAUGHAN, E.D., jr., SORENSON, E.J., GILLENWATER, J.Y.:

The Renal Hemodynamic Response to Chronic Unilate-
ral Complete Ureteral Occlusion.
Invest. Urol. 8, 78 - 90 (1970)

WATON, N.G.:

Studies on mammalian histidine decarboxylase.
Brit. J. Pharmacol. 11, 119 - 124 (1956)

WAUGH, W.H., SHANKS, R.G.:

Cause of genuine autoregulation of the renal
circulation.

Circ. Res. 8, 871 - 888 (1960)

WEICHSELBAUM, T.E.:

Protein determination by the biuret method.

Amer. J. Clin. Path. 10, 40 - 46 (1946)

WERLE, E., MADLENER, M.J., HERRMANN, H.:

Über das Verhalten der Histidindecaboxylase bei
Nierenschädigungen.

Z. exper. Med. 107, 252 - 256 (1940)

WERLE, E., LELLMANN, G.:

Verhalten der Histidindecaboxylase und der
Histaminase bei Nierenschädigungen.

Z. exper. Med. 114, 674 - 679 (1945)

WESTLING, H., WETTERQVIST, H.:

Methylation of (^{14}C)- histamine by the rat
kidney in vitro.

Med. Exp. 7, 51 - 55 (1962)

Meine akademischen Lehrer in Marburg waren die Herren
Professoren und Dozenten:

Amon, Aurich, Dimroth, Demike, Engelhardt, Göbell,
Haan, Häuser, Hinnis, Hering, Hort, Jahnke, Karlson,
Koecke, Korb, Kühnel, Lorenz, Mann, Niemeyer, Petry,
Pfütz, Riecken, Rohen, Rosemann, Rupéc, Schiff,
Schmidt, Schmitz-Moormann, Schnell, Seidel, Walcher,
Wehrmeyer.

Hiermit bedanke ich mich bei meinem Doktorvater Herrn Professor Dr.med.W. Lorenz für die Überlassung des Themas.

Ebenso gilt meine Danksagung Herrn Dr.rer.nat. H. Barth, der die Leitung der wissenschaftlichen Durchführung übernommen hatte und mir hilfreich bei Beantwortungen fachlicher Fragen zur Seite stand.

Ferner bedanke ich mich für die freundliche Hilfestellung der Herren Professor Dr.med. K. Naber, K. Brodala und darüberhinaus den Mitarbeitern des Institutes.

LEBENS LAUF

Am 6.11.1948 wurde ich, Klaus-Richard Herrmann, als Sohn des Sport- und Realschullehrers Richard Herrmann und seiner Ehefrau Adda in Lübeck geboren. Zu Ostern 1955 wurde ich in die Volksschule am Stadtpark eingeschult und besuchte von Ostern 1959 bis zum Sommer 1967 das Jahanneum in Lübeck, wo ich mein Abitur erwarb. Bis zum Winter 1968 war ich Offiziersanwärter beim Bundesgrenzschutz. Zum Wintersemester 1968/69 begann ich an der Philipps-Universität zu Marburg im Fach Zahnheilkunde mein Studium, machte nach dem Sommersemester 1969 mein Vorphysikum und nach dem Wintersemester 1970/71 mein Physikum. Nach meinem Staatsexamen im SS 1973 (beendet im November) war ich im Januar 1974 als Assistenzarzt bei Zahnarzt Schneider in Hartenrod angestellt, ab März 1974 - Februar 1976 als Assistenzarzt bei Zahnarzt Dr. Eicher in Düsseldorf. Am 15.3.1976 eröffnete ich meine eigene Zahnarztpraxis in Lübeck.

ALTSTADT-[☎]78399
Druckerei

Volker Laackmann
Beckergrube 81
2400 LÜBECK

